

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-338700

(43)Date of publication of application : 22.12.1998

(51)Int.Cl.

C07K 14/00
// C12N 15/09
C12P 21/02

(21)Application number : 09-150527

(71)Applicant : KANEGAFUCHI CHEM IND CO LTD

(22)Date of filing : 09.06.1997

(72)Inventor : TANI NOBUTAKA
YASUDA TAKAMUNE
NAKAI TAKANAO
ODAWARA OSAMU

(54) NEW PEPTIDE COMPOUND

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a new peptide compound comprising a specific peptide compound having ability capable of being bound to a metal compound, and useful for a high function photocatalyst system, capable of regulating an orientation and configuration of a metal compound in a molecular level, and useful as a specific hydrolysis catalyst of DNA, etc.

SOLUTION: This peptide compound is the new protein having an ability capable of being bound to a metal compound, a fragment of the protein, a peptide or a derivative of the variant thereof, and the metal compound is a metal ion including a metal atom, a metal oxide, a metal sulfide, etc., of Ti, Cd, Cu, Pb, V, Si, Pt, Ag, Rh, Mo, Fe, Sn, Ce, ruthenium, neodymium, praseodymium, etc. The peptide compound can be bound to the metal compound, enables the control of the orientation and configuration thereof in a molecular level, and is useful as a substrate for constructing a high performance photocatalyst system, and a catalyst, etc. for sequence-specific hydrolysis of an RNA and a DNA by forming a rare earth element complex, etc. The peptide compound is obtained from a ROP-protein and a variant formed by a recombination of gene thereof or peptide synthesis.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-338700

(43) 公開日 平成10年(1998)12月22日

(51) Int.Cl.*

識別記号

F I

C 0 7 K 14/00

Z N A

C 0 7 K 14/00

Z N A

// C 1 2 N 15/09

C 1 2 P 21/02

C

C 1 2 P 21/02

C 1 2 N 15/00

A

審査請求 未請求 請求項の数8 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平9-150527

(22) 出願日 平成9年(1997)6月9日

(71) 出願人 000000941

鐘淵化学工業株式会社

大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号

(72) 発明者 谷 敏孝

大阪府大阪市阿倍野区文の里四丁目17-29

(72) 発明者 安田 尊宗

兵庫県神戸市西区伊川谷町有瀬166-267

(72) 発明者 中井 孝尚

兵庫県神戸市西区伊川谷町潤和1210-42

(72) 発明者 小田原 修

兵庫県高砂市西畑一丁目13-1-303

(54) 【発明の名称】 新規ペプチド化合物

(57) 【要約】

【課題】 金属化合物を結合し、分子レベルでその配向や配列の制御を可能にした新規な蛋白質、蛋白質断片、ペプチドまたはこれらの変異体の誘導体を提供すること。

【解決手段】 蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の有する特徴的な立体構造上に、ニトリロ三酢酸構造などを有する官能基を導入することにより、結合する金属化合物の構造を分子レベルで制御することが可能となる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 金属化合物を結合する能力を有する蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項2】 金属化合物が、チタン、カドミウム、銅、亜鉛、バナジウム、ケイ素、白金、銀、ルテニウム、モリブデン、鉄、スズ、セリウム、ルテチウム、ネオジウム、プラセオジムからなる群から選択される、少なくとも1種の金属原子を含む金属イオン、金属酸化物、または金属硫化物である、請求項1に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項3】 金属化合物が、光触媒作用を有する、請求項2に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項4】 ジカルボキシメチル化されたアミノ基を有する、請求項2に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項5】 ジカルボキシメチル化されたアミノ基がジカルボキシメチルグリシン残基である、請求項4に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項6】 ジカルボキシメチル化されたアミノ基がジカルボキシメチルアスパラギン酸残基および/またはジカルボキシメチルグルタミン酸残基である、請求項4に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項7】 ニトリロ三酢酸構造を含む、請求項2に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【請求項8】 蛋白質、蛋白質断片またはペプチドが、ロッププロテイン、GCN4ロイシンジッパー、鳥由来膵臓ポリペプチド、またはこれらの変異体からなる群から選択される、少なくとも1種である、請求項2〜7に記載の蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、金属化合物を結合する能力を有する新規な蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 人工光合成システムとしての要素を備えた光触媒あるいは光触媒作用の助けによって、クリーンかつ無尽蔵の太陽光エネルギーを利用して二酸化炭素の還元、窒素の固定、窒素酸化物(NO_x)や硫酸酸化物(SO_x)の無害化を行うプロセスを実現することは、環境問題における大きな課題である。光触媒は、高い酸化還元力を持ち、通常の触媒系では進行しない反応を常

温常圧条件下で進行させることができる。

【0003】 これまでに、粉末酸化チタンを光触媒とした固相-気相系反応(Yamashita H.ら Res. Chem. Intermedi., 20, 815 (1994))や光透過性に優れた大表面積の多孔質バイコールガラス(PVG)やゼオライトの細孔内に固定化法で保持した固定化チタン酸化物を光触媒とした二酸化炭素の水による還元固定化反応(Anpo M.ら J. Mol. Catal., 74, 207 (1992))が報告されている。また、ゼオライトやシリカにイオン交換法で固定化担持した銅イオン触媒上にNOを導入して光照射を行うと、光触媒反応として常温でNOが N_2 と O_2 に直接分解されることが見出されている(Anpo M.ら J. Phys. Chem., 98, 5744 (1994))。

【0004】 また光触媒反応では、ゼオライト細孔などのミクロな空間内に押し込まれた光機能材料が、本来有している構造や光化学特性を変えることが観察されている(Nishiguchi H.ら Res. Chem. Intermedi. 投稿中)。このように、光触媒反応においては、反応場の制御はその機能発現に重要であり、分子の配向と配列を制御するために、多孔質ガラスやゼオライト細孔が利用されている。しかしこれまで光触媒反応における反応場の制御に、生体分子である蛋白質やペプチドを利用した報告はない。また、金属イオンを結合する蛋白質あるいはペプチドは知られているが、蛋白質あるいはペプチドの立体構造を利用してチタンや銅などの金属原子の規則的な配列形成を行った報告はない。

30 【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、蛋白質やペプチドの有する特徴的な立体構造と光触媒作用を有する金属化合物を利用することにより、分子レベルで構造制御した高機能光触媒系の構築が可能となる新規な蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体を提供せんとするものである。

【0006】

【課題を解決しようとするための手段】 本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、上記課題を解決するために本発明を完成させるに至った。即ち、本発明は、金属化合物を結合する能力を有する蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体に関するものである。

【0007】 好適な実施態様においては、金属化合物が、チタン、カドミウム、銅、亜鉛、バナジウム、ケイ素、白金、銀、ルテニウム、モリブデン、鉄、スズ、セリウム、ルテチウム、ネオジウム、プラセオジムからなる群から選択される、少なくとも1種の金属原子を含む金属イオン、金属酸化物、または金属硫化物である、蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の

誘導体に関する。

【0008】より好適な実施態様においては、金属化合物が、光触媒作用を有する、蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体に関する。別のより好適な実施態様においては、ジカルボキシメチル化されたアミノ基を有する、蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体に関する。

【0009】さらに別のより好適な実施態様においては、ニトリロ三酢酸構造を含む、蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体に関する。別の好適な実施態様においては、蛋白質、蛋白質断片またはペプチドが、ロッププロテイン、GCN4ロイシンジッパー、鳥由来膜タンパク質ペプチド（以下「APP」と略す。）、またはそれらの変異体からなる群から選択される、少なくとも1種である、蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体に関する。

【0010】

【発明の実施の形態】本発明においては、各種アミノ酸残基を次の略号で記載する。即ち、Ala；L-アラニン残基、Arg；L-アルギニン残基、Asp；L-アスパラギン酸残基、Asn；L-アスパラギン残基、Cys；L-システイン残基、Gln；L-グルタミン残基、Glu；L-グルタミン酸残基、Gly；L-グリシン残基、His；L-ヒスチジン残基、Ile；L-イソロイシン残基、Leu；L-ロイシン残基、Lys；L-リジン残基、Met；L-メチオニン残基、Pro；L-プロリン残基、Phe；L-フェニルアラニン残基、Ser；L-セリン残基、Thr；L-スレオニン残基、Trp；L-トリプトファン残基、Tyr；L-チロシン残基、Val；L-バリン残基である。

【0011】また、本発明においては、蛋白質またはペプチドのアミノ酸配列を、そのアミノ末端（以下N末端という）が左側に位置し、カルボキシル末端（以下C末端という）が右側に位置するように、常法に従って記述する。本発明に用いられる誘導体とは、蛋白質、蛋白質断片、ペプチドまたはこれらの変異体を、ヨード酢酸、プロモ酢酸などのハロゲン酢酸、ジカルボキシメチルグリシン、ジカルボキシメチルアスパラギン酸、ジカルボキシメチルグルタミン酸などのジカルボキシメチル化されたアミノ基等を用いて化学的な修飾を行い、光触媒作用を有する化合物を結合しうる官能基（図1および図2参照）を付与したものをいう。なお、ここでいうジカルボキシメチルアスパラギン酸、及びジカルボキシメチルグルタミン酸はニトリロ三酢酸構造をもつものである。

【0012】また本発明に用いられる誘導体とは、蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドが、ロッププロテイン、GCN4ロイシンジッパー、APP、またはこれらの変異体を用いたものであることが好ましい。具体的には、前記誘導体は、ロッププロテイン（David W.B.らJ. Mol. Biol., 196, 657 (198

7）、配列表の配列番号1）およびその遺伝子組換えまたはペプチド合成によって作製された変異体などから得られる。

【0013】また前記誘導体は、GCN4ロイシンジッパー（Erin K.らScience, 254, 539 (1991)、配列表の配列番号3）およびその遺伝子組換えまたはペプチド合成によって作製された変異体などから得られる。さらに前記誘導体は、APP（Bundel T.L.らProc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 4175 (1981)、配列表の配列番号2）およびその遺伝子組換えまたはペプチド合成によって作製された変異体などから得られる。

【0014】本発明に用いられる蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドの変異体とは、アミノ酸配列のアミノ酸の1部が欠失、置換、挿入、または付加のうち、少なくともそのいずれかが行われた蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドをいう。本発明に用いられる蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドの変異体は、天然に存在するアミノ酸およびその非天然型の両者を含む。

【0015】本発明に用いられる光触媒作用を有する化合物とは、金属イオン、金属酸化物、金属硫化物などの無機機能性分子、クロロフィルなどの有機機能性分子をいう。本発明で用いられる蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドの変異体としては、配列表の配列番号4、配列番号5、配列番号6、および配列番号7に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドの変異体が、好適に用いられる。これらアミノ酸配列領域において最も重要な特徴は、3残基、4残基あるいは6残基の間隔でリジン残基が存在していることである。このアミノ酸置換により、蛋白質やペプチドの持つ α -ヘリックスと呼ばれる二次構造上に周期的にリジン残基が配列する。このように周期的に配列したリジン残基の側鎖アミノ基を修飾した誘導体を作製することで、光触媒作用を有する化合物を分子レベルで制御、配列させることができる。修飾を行うアミノ酸残基としては、リジン残基が好適に用いられるが、アミノ基などの適切な官能基を側鎖に有する非天然アミノ酸残基であってもよい。

【0016】本発明で用いられる蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドの変異体は、通常用いられるペプチド合成法、例えば、固相合成法、段階的伸長法、フラグメント縮合法のような液相法により作製してもよいし、蛋白質、蛋白質断片またはペプチドの変異体をコードするDNAをベクターに連結し、宿主に導入して組換え蛋白質またはペプチド変異体を生産させる遺伝子操作法によって作製してもよい。

【0017】本発明で用いられる蛋白質、蛋白質断片、ペプチド、またはこれらの変異体の誘導体は、通常用いられる蛋白質またはペプチドの化学修飾法によって作製してもよいし、あらかじめ金属化合物を導入するための官能基を含んだ、例えば図3に示す非天然アミノ酸を

用いるペプチド合成法によって作製してもよい。本発明の誘導体と結合しうる金属化合物とは、チタン、カドミウム、銅、亜鉛、バナジウム、ケイ素、白金、銀、ルテニウム、モリブデン、鉄、スズ、セリウム、ルテチウム、ネオジウム、プラセオジウムからなる群から選択される、少なくとも一種の金属原子を含む金属イオン、金属酸化物または金属硫化物などをいう。

【0018】

【実施例】以下実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明は以下の実施例のみに限定されるものではない。

（実施例1） ロッププロテイン変異体（ROP-K6）の作成

配列表の配列番号4に記載のロッププロテイン変異体をコードするDNA（配列表の配列番号8のDNA配列）を合成した。このDNAは、pUCNTベクター（特開平4-212692）に5'側をNdeI、3'側をHindIIIのそれぞれ制限酵素サイトを利用して連結できるように設計されている。

【0019】配列表の配列番号8に記載のDNAを、制限酵素NdeIおよびHindIII（宝酒造株式会社製）消化によって開裂したpUCNTベクターと、宝酒造株式会社製DNA Ligation Kit Ver. 2を用いて手順書に従って連結し、pUROP-6ベクター（図4参照）を作製した。公知の方法で、このpUROP-6ベクターDNAを大腸菌HB101株（ファコシ社製）に導入し、抗生物質アンピシリンに対する抵抗性を指標として形質転換体を選択した。

【0020】また、この形質転換体から常法にてプラスミドDNAを抽出、遺伝子配列を解析することによってpUROP-6ベクター設計通りのDNA配列を有していることを確認した。次に、この形質転換体を24リットルのL-ブロス（5g/L NaCl、10g/L バクトトリブシン、5g/L イーストエキストラクト）中で37℃にて20時間振盪培養し、菌体を遠心分離（日立RPR9-2ローターを用い4℃で6000rpm、20分間）にて回収した。ここで得られた沈殿を300mlのTE緩衝液（20mM Tris-HCl、1mM EDTA、pH7.5）に懸濁した上で、超音波破碎処理（BRANSON250を用い水中にて6分間3回）を施し、遠心分離（日立RPR16ローターを用い4℃で15000rpm、20分間）にて上清を回収した。ここで得られた上清を70℃、10分間の熱処理を行った後、さらに遠心分離（日立RPR16ローターを用い4℃で15000rpm、20分間）にてその上清300mlを回収した。本上清から高速液体クロマトグラフィー（カラム：Waters μ BONDASPHERE 5 μ C18 300Å 19.0X150mm）を用いて40mlのアセトニトリル溶液を流速5ml/分にて流してカラムを活性化した後300mlの

サンプルを同流速にて流し、0.1%TFA+64%アセトニトリル溶液200mlにてカラムを洗浄、続いて0.1%TFA+40%アセトニトリル溶液200mlにて目的のROP-K6ペプチドを溶出、分取した。これをエバポレーターにて100mlに濃縮した上で凍結乾燥し、高純度精製標品として120mgを取得した。

（実施例2） GCN4ロイシンジッパーの変異体（GCN4-K4）の合成

N末端をアセチル化したGCN4ロイシンジッパーの変異体（以下、GCN4-K4という）の33残基よりなる配列を有するペプチドの合成を、ペプチドシンセサイザーModel 4170型（ファルマシアLKB社製）を用いて固相合成法により以下のように行った。

【0021】C末端のグルタミンを結合した支持体であるFmoc-アルギニン（Mtr）NovaSyn KA 0.1mmol（ファルマシアLKB社製）を用いて、上記ペプチドシンセサイザーに入力されている合成プログラムにより、N末端の方向に向かって順に、脱保護基反応および縮合反応を繰り返してペプチド鎖を延長した。すなわち、ビベリジンにより該アミノ酸が有する α -アミノ基の保護基である9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基（以下Fmocという）の除去を行ない、N'-N-ジメチルフロムアミド（以下DMFという）で洗浄し、2-（1H-ベンゾトリアゾール-1-イル）-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレートとN'-N-ジイソプロピルエチルアミンで縮合反応を行ない、DMFで洗浄する操作を繰り返した。アミノ酸は、Fmoc-L-Ala、Fmoc-L-Arg（Mtr）、Fmoc-L-Asn（Trt）、Fmoc-L-Gln（Trt）、Fmoc-L-Glu（OtBu）、Fmoc-L-Leu、Fmoc-L-Lys（Boc）、Fmoc-L-Met、Fmoc-L-Tyr（tBu）、Fmoc-L-Val、として用い、それらの使用量は基質に対して約5倍モル（0.5mmol）量を、バイアル中で用いた。（ここで、Mtr、Trt、OtBu、Boc、およびtBuは、それぞれトリメチルベンゼンスルホニル基、トリチル基、第3ブチルエステル、第3ブチルオキシカルボニル基、およびo-第3ブチル基を表す。）

全てのアミノ酸についての反応操作が終了したのち、得られた支持体を3G-3孔のグラスフィルター上でtert-アミルアルコール、酢酸、およびジエチルエーテルを用いて順次洗浄し、次いで真空乾燥することによって乾燥支持体を得た。バイアル中で、得られた支持体1gに、トリフルオロ酢酸（以下TFAという）20ml、1,2-エタンジチオール260 μ l、およびアニソール780 μ lを加えて室温で1.5時間攪拌した。その後、この混合物を3G-3孔のグラスフィルターで支持体と濾別し、この濾液を35℃下で減圧濃縮した。これに予め冷却しておいた無水ジエチルエーテルを沈殿

が現れなくなるまで加えて攪拌し、次いで遠心分離し、沈殿した粗ペプチドを収集した。さらに、この粗ペプチドを無水ジエチルエーテルで数回洗浄した後、減圧下で乾燥し、目的とする粗精製ペプチドを得た。

【0022】上記、粗精製ペプチドを0.1% TFAに溶解して、0.2 μ mのメンブレンフィルターで濾過し、得られた濾液を高速液体クロマトグラフィーに供した。HPLCは、Model LC-10Aシステム（島津製作所製）を用い、カラムは逆相系の μ Bondasphere C18（日本ミリポア、ウォーターズ社製）を用いた。移動相にはA液として0.1% TFA水溶液を、B液として0.1% TFA含む80%（v/v）アセトニトリル／水を用い、A液からB液への濃度直線勾配により溶出した。得られたクロマトピークの相当画分を分取した。分取を数回繰り返す、これを凍結乾燥することにより精製ペプチドを得た。得られたペプチドは、気相プロテインシーケンサー477型（アプライドバイオシステムズ社製）および日立カスタムイオン交換樹脂を用いたアミノ酸分析、により解析して、配列表の配列番号7に記載のアミノ酸配列のペプチドが得られていることを確認した。

（実施例3） ジカルボキシメチルグリシンで修飾されたGCN4-K4の調製

N末端をアセチル化したGCN4-K4 4.9 mgを、0.1 Mホウ酸緩衝液（pH 8.5）1 mlに溶解した溶液に、ジカルボキシル化メチルグリシン-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル（ペプチド研究所製）2.7 mgをジオキサン（100 μ l）に溶かした溶液を加える。攪拌しながら室温で、終夜反応させた。反応液を、凍結乾燥後、少量の0.1% TFAに溶解して、0.2 μ mのメンブレンフィルターで濾過し、得られたろ液を高速液体クロマトグラフィーに供した。HPLCは、Model LC-10Aシステム（島津製作所製）を用い、カラムは逆相系の μ Bondasphere C18（日本ミリポア、ウォーターズ社製）を用いた。移動相にはA液として0.1% TFA水溶液を、B液として0.1% TFA含む80%（v/v）アセトニトリル

配列

Met Thr Lys Gln Glu Lys Thr Ala Leu Asn Met Ala Arg Phe Ile	
1 5 10 15	
Arg Ser Gln Thr Leu Thr Leu Leu Glu Lys Leu Asn Glu Leu Asp	
20 25 30	
Ala Asp Glu Gln Ala Asp Ile Cys Glu Ser Leu His Asp His Ala	
35 40 45	
Asp Glu Leu Tyr Arg Ser Cys Leu Ala Arg Phe Gly Asp Asp Gly	
50 55 60	
Glu Asn Leu	

配列番号：2

配列の長さ：36

配列の型：アミノ酸

*ル／水を用い、A液からB液への濃度直線勾配により溶出した。得られたクロマトピークの相当画分を分取した。分取を数回繰り返す、これを凍結乾燥することによりジカルボキシメチルグリシンの結合したGCN4-K4を得た。

（実施例4） 銅原子を含んだGCN4-K4誘導体の調製

実施例3で得られたジカルボキシメチルグリシンの結合したGCN4-K4 1 mgを、100 mM硫酸銅を含む10 mMリン酸緩衝液1 mlに溶解し、室温で3時間放置した後、10 mMリン酸緩衝液に透析し、透析液を0.5 mlにまで濃縮した後、NAP-10カラム（ファルマシア・LKBバイオテクノロジー社製）を用いて脱塩した。溶出液を集め凍結乾燥して原子吸光分析用試料とした。GFAAS法による原子吸光分析の結果、GCN4-K4誘導体は、1分子当たり4個の銅原子を含んでいることが確認できた。

【0023】

【発明の効果】本発明によれば、金属化合物を結合し、分子レベルでその配向や配列の制御を可能にした新規な蛋白質、蛋白質断片、またはペプチド誘導体が提供される。蛋白質やペプチドの有する特徴的な構造と光触媒作用を有する金属化合物を利用した新規蛋白質、蛋白質断片またはペプチド誘導体により、分子レベルでの構造制御した高機能光触媒系の構築用の基材が提供される。また、配列特異的な核酸結合能を有する蛋白質、蛋白質断片、またはペプチドの誘導体にセリウムなどの希土類錯体を形成させることにより、RNAやDNAの配列特異的加水分解触媒としても利用できる。

【0024】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：63

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

(6)

特開平10-338700

9

10

配列

Gly Pro Ser Gln Pro Thr Tyr Pro Gly Asp Asp Ala Pro Val Glu

1 5 10 15

Asp Leu Ile Arg Phe Tyr Asp Asn Leu Gln Gln Tyr Leu Asn Val

20 25 30

Val Thr Arg His Arg Tyr

35

配列番号：3

※トポロジー：直鎖状

配列の長さ：33

配列の種類：ペプチド

配列の型：アミノ酸

*10

配列

Arg Met Lys Gln Leu Glu Asp Lys Val Glu Glu Leu Leu Ser Lys

1 5 10 15

Asn Tyr His Leu Glu Asn Glu Val Ala Arg Leu Lys Lys Leu Val

20 25 30

Gly Glu Arg

配列番号：4

※トポロジー：直鎖状

配列の長さ：63

配列の種類：ペプチド

配列の型：アミノ酸

※

配列

Met Thr Arg Gln Glu Lys Thr Ala Leu Lys Met Ala Glu Phe Ile

1 5 10 15

Glu Lys Gln Thr Leu Thr Leu Leu Lys Arg Leu Asn Glu Leu Asp

20 25 30

Ala Asp Glu Gln Ala Lys Ile Cys Glu Ser Leu His Lys His Ala

35 40 45

Asp Glu Leu Tyr Lys Ser Cys Leu Ala Arg Phe Gly Asp Asp Gly

50 55 60

Glu Asn Leu

配列番号：5

30★トポロジー：直鎖状

配列の長さ：63

配列の種類：ペプチド

配列の型：アミノ酸

★

配列

Met Thr Arg Gln Glu Lys Thr Ala Leu Lys Met Ala Lys Phe Ile

1 5 10 15

Glu Lys Gln Thr Leu Lys Leu Leu Lys Arg Leu Asn Glu Leu Asp

20 25 30

Ala Asp Glu Gln Ala Lys Ile Cys Lys Ser Leu His Lys His Ala

35 40 45

Lys Glu Leu Tyr Lys Ser Cys Leu Ala Arg Phe Gly Asp Asp Gly

50 55 60

Glu Asn Leu

配列番号：6

☆トポロジー：直鎖状

配列の長さ：36

配列の種類：ペプチド

配列の型：アミノ酸

☆

配列

Gly Pro Ser Gln Pro Thr Tyr Pro Gly Asp Asp Ala Pro Val Lys

1 5 10 15

Asp Leu Ile Lys Phe Tyr Asp Lys Leu Gln Gln Tyr Leu Asn Val

20 25 30

Val Thr Arg Ala Arg Tyr

配列番号: 7

配列の長さ: 33

配列の型: アミノ酸

※トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

*

配列

Arg Met Arg Gln Leu Glu Lys Arg Val Glu Glu Leu Leu Lys Arg

1 5 10 15

Asn Tyr Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Arg Leu Arg Lys Leu Val

20 25 30

Gly Glu Arg

配列番号: 8

配列の長さ: 199

配列の型: 核酸

※トポロジー: 二本鎖

配列の種類: 他の核酸、合成DNA

※

配列

CATATGACTC GTCAGGAGAA AACTGCTCTG AAAATGGCTG AGTTCATCGA GAAACAGACT 60

CTGACTCTGC TGAAACGTCT GAACGAGCTC GACGCTGACG ACCAGGCTAA AATCTCCGAG 120

TCTTTACATA AACATGCTGA CGAGCTGTAT AAATCTTGCT TAGCTCGTTT CCGTGACGAC 180

CGTGAAAACC TGTAAGCTT

【図面の簡単な説明】

【図1】 4配位で金属原子を結合した誘導体の部分構造の模式図である。ジカルボキシメチル化された窒素原子を含む構造で金属原子を配位することができる。Mは、金属イオン、金属酸化物または硫化物、 H_2O は水分子である。

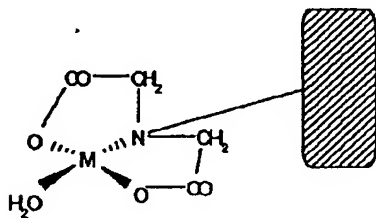
【図2】 6配位で金属原子を結合した誘導体の部分構造の模式図である。ニトリロ三酢酸構造で金属原子を配位することができる。Mは、金属イオン、金属酸化物または硫化物、 H_2O は水分子である。

★

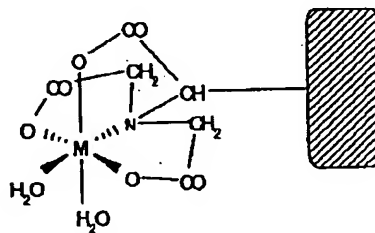
★【図3】 金属原子を結合しうる官能基を含んだ非天然アミノ酸の構造である。nは1以上の整数である。

【図4】 ロッププロテイン変異体(ROP-K6)発現プラスミドpUROP-K6の模式図である。他の変異体類の発現ベクターは、pUROP-K6のNde I-Hind III間に挿入されているROP-K6変異体をコードするDNAを、配列表の配列番号5から7に記載されている他の変異体類をコードするDNAに置き換えたものである。

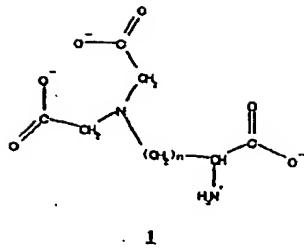
【図1】



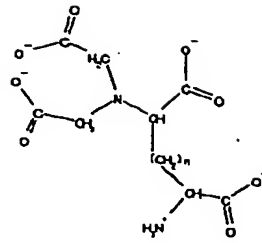
【図2】



【図3】



1



2

【図4】

